Aus der medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. H. E. Bock

Verhalten des Cortisolspiegels im Plasma als Ausdruck der Nebennierenrindenaktivität unter CO_2-Bädern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Jürgen Fink
aus Berlin-Wilmersdorf

1968

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547604_0117

Aus der medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Direktor: Prof. Dr. H. E. Bock

Verhalten des Cortisolspiegels im Plasma als Ausdruck der Nebennierenrindenaktivität unter CO_2-Bädern

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Jürgen Fink
aus Berlin-Wilmersdorf

1968

Dekan: *Professor Dr. Lembeck*
1. Berichterstatter: *Priv.-Dozent Dr. Franke*
2. Berichterstatter: *Professor Dr. Bock*

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gesamtherstellung: Druckerei W. Röck, Weinsberg

Meinen Eltern in Dankbarkeit

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	7
Methodik	15
A Untersuchungsgut	15
B Durchführung der Untersuchungen	15
C Bestimmung des freien Cortisols im Plasma	19
I) Beschreibung der Methode	19
II) Schematische Darstellung der chemischen Aufarbeitung	20
a) Extraktion	20
b) Reinigung	21
Ergebnisse	23
Statistische Auswertung	36
Zusammenfassung	42
Literatur	45

EINLEITUNG

Bei der Anwendung physikalischer Reize, die im Verlauf therapeutischer Maßnahmen auf einen Organismus einwirken, muß man zwischen einer lokalen und einer allgemeinen, den ganzen Organismus betreffenden Wirkung differenzieren. Derartige Reize werden zum Beispiel auch von allen zur Balneologie gehörigen Maßnahmen verursacht; eine der wichtigsten von ihnen stellt das Kohlensäurebad dar.

Die Wirkungsweise von kohlensäurehaltigen Bädern wurde grundlegend von GOLLWITZER-MEYER, WITZLEB, HILDEBRANDT, HILLER u. a. untersucht. Dabei zeigte sich eine wesentliche Wirkung des CO_2-Bades auf die terminale Strombahn, welcher der eines heißen Süßwasserbades im wesentlichen gleichkommt (FRANKE 1965), im Gegensatz zu diesem aber die zentralen Kreislaufgrößen jedoch nicht belastet.

Eine lokale Wirkung der Kohlensäure auf die Haut im Sinne einer Steigerung der kapillären Hautdurchblutung kennt man schon länger (LILJESTRAND und MAGNUS 1921/1922; KRAMER und SARRE 1935; GOLLWITZER-MEYER 1935/1937; PARADE 1955 u. a.).

Die Tatsache, daß die Kohlensäure von der Haut resorbiert wird und über die Hautkapillaren Eingang in die Blutbahn findet (WINTERNITZ 1901; KRAMER und SARRE 1935); SHAW und MESSER 1931; LIESEGANG und LAMPERT 1935; HAEUSSLER 1935; WITZLEB 1955 u. a.), ließ schon lange an eine eventuelle Allgemeinwirkung der Kohlensäure denken. Neuere Untersuchungen von FRANKE und DÜRR 1966, welche eine mögliche Wirkung der Kohlensäure anhand des Säure-Basen-Haushaltes im Blut kontrollierten, ergaben jedoch, daß eine allgemeine CO_2-Wirkung auf resorptivem Wege nicht möglich ist.

Da eine Allgemeinwirkung jedoch generell nicht ausgeschlossen werden konnte, ein solcher Effekt auf humoraler Basis durch CO_2

aber nicht nachgewiesen ist, erschienen Untersuchungen darüber, ob es unter CO_2-Bädern ebenso, wie bei einer ganzen Reihe anderer balneologischer Maßnahmen auch, zu einer sogenannten „Stress-Reaktion" kommen könnte, bedeutungsvoll.

Diese von SELYE 1936 erstmals umrissene „Stress"-Konzeption fand in der folgenden Zeit allgemein starke Beachtung und Anerkennung und wäre aus der heutigen medizinischen Denkweise nicht mehr wegzudenken. Sie besagt, daß ein Organismus, auf den völlig verschiedenartige Reize einwirken, neben den für diese Reize spezifischen Reaktionen mit einem stereotypen, immer gänzlich gleichartigen und unspezifischen Erscheinungsbild, einem „Stress", antwortet. (SELYE 1946, 1951, 1952, 1953, 1956.) Als Ausdruck dieses „Stress" kennt man eine ganze Reihe verschiedenster Reaktionen, so u. a. das Absinken der Eosinophilen (WIEDEMANN 1957; KÜHNAU 1952; THORN, FORSHAM, PRUNTY, HILLS 1948), gastro-intestinale Erosionen, eine entzündungshemmende Wirkung und vor allem die auch für unsere Untersuchungen wichtige Nebennierenrinden-Hyperaktivität (SELYE 1937, 1956).

Diese Aktivierung der Nebennierenrinde erfolgt dabei über das hypophysär-adrenocorticale System (SELYE und HORAVA 1952; SELYE 1953; KÜHNAU 1952 u. a.). Man nimmt an, daß die vom Angriffsort der Stressoren ausgehenden Impulse über neurale Bahnen zur Hypophyse gelangen und diese zur Hormonausschüttung anregen. So wird u. a. auch die Nebennierenrinde mittels des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) veranlaßt, ihrerseits ebenfalls Hormone (Corticoide) auszuschütten, worauf der Organismus als Ganzes den einwirkenden Stressorkräften entgegenwirkt.

Wird ein Organismus über längere Zeit mit einer „Stress"-Situation konfrontiert, so reagiert er in Form des sogenannten „General Adaption Syndrom", welches als „General Adaption Reaction" in drei Stadien abläuft:

1. Die Alarmreaktion (Stage of alarm);
2. Die Stufe generalisierter Anstrengungen des Körpers die erste

Stufe zu überwinden und sich den neuen Bedingungen anzupassen (Stage of resistance).

Daraufhin folgt:

3. *entweder*, falls der Reizzustand beendet ist, die Erholungsphase,

oder, bei Fortdauer der ungewohnten Situation der Zustand der Erschöpfung (Stage of exhaustion), die den Tod zur Folge hat.

War der Organismus jedoch einmal den verschiedenen „Stimuli" oder „Stressoren" ausgesetzt (über kürzere Zeit), so erhöht sich seine Widerstandskraft und kann, im Gegensatz zu einem nicht „adaptierten" Organismus, der gleich einem starken Reiz begegnen muß und zu Grunde geht, diesen starken Reiz überstehen (SELYE 1936, 1937, 1946).

Wie oben schon erwähnt, kennt man vielerlei Ursachen, die einen „Stress" bewirken können und im Sinne des Selye'schen „Stress"-Syndromes, als Ausdruck einer gesteigerten Nebennierenrindenaktivität, eine vermehrte Corticoidausschüttung zur Folge haben. Grundsätzlich jedoch werden alle Reize, die fähig sind eine Alarmreaktion und damit einen „Stress" auszulösen, als „Stimuli" oder „Stressoren" bezeichnet (SELYE 1946).

Die wichtigsten seien hier noch einmal genannt:

1. Traumatischer Schock, wie zum Beispiel Operation oder Blutung (ALLEN 1939; BELL, CLARKE, CUTHBERTSON 1938; CANNON 1923; DAVIS und JERMSTAD 1939; HARTENBACH 1956; KHALIL 1954; RIML 1939; STARK, FRIEDBERG und ALLMACHER 1960).

2. Thermische Ursachen, Kälteexposition oder hohe Temperaturen (ALLEN 1939; BACCHUS 1951; KHALIL 1954; KILIAN 1943; PETERSEN 1940; PINCUS und HOAGLAND 1943;

RIML 1939; ROBINSON und YOFFEY 1950; SAYERS und SAYERS 1937; THADDEA 1938; TALBOT, CONSOLAZIO, PECORA 1941).

3. Körperliche Arbeit (ARNHOLD 1937; BEZNAK und SARKADY 1933; BEZNAK und PERJES 1935; PINCUS und HOAGLAND 1943; RIML 1939; SAYERS und SAYERS 1947; STEINHAUS 1953; THADDEA und AUERSBACH 1939).

4. Geburt als Schockursache (MATTHEWS 1939; RUSSEL 1940; SOLOMONS 1940; SHEEMAN 1939; SNAITH 1940).

5. Hämorrhagie als Stressursache (DAVIS und JERMSTAD 1939; FINE, FISCHMANN und FRANK 1942).

6. Verbrennungen (ERB, MORGAN und FARMER 1943; FICARA und NACLERIO 1920; HILGENFELDT 1936).

7. Infektionen (DEANESLY 1931; LIEBEGOTT 1944; PHOTAKIS 1921; RIML 1939; SCHNEPPENHEIM und HUHN 1955; TONUTTI 1950; VONKENNEL 1950).

8. Intoxikationen (ALLEN 1939; OLITZKI, AVINERY und KOCH 1942).

9. Drogen (DAVIS und JERMSTAD 1939; EINHAUSER 1939; RIML 1939).

10. Temporärer Gefäßverschluß (Ligierung von Gefäßen) (ALLEN 1939; HUNGERLAND 1934; HUNGERLAND 1935).

11. Sauerstoffmangel oder niederer Luftdruck (DOHAN 1942; LANGLEY und CLARKE 1942; RAAB 1943; SCHNEPPENHEIM und HUHN 1955).

12. Strahleneinwirkung (Röntgen-, Radium- oder Sonnenstrahlung) (ELLINGER 1935; MOON, KORNBLUM und MORGAN 1941; PINNER und MARGULIS 1936; RIML 1939; THADDEA und AUERSBACH 1939).

Die durch äußere Einflüsse (Reize) auf die Haut bewirkten Stressreaktionen nützt man in der Balneologie dazu aus, um über eine „milde" Aktivierung des Hypophysenvorderlappen-Nebennierenrinden-Systems den Organismus auf ein höheres Niveau der Leistungsfähigkeit und Abwehrbereitschaft zu bringen. Dies soll mittels unterschwelliger, durch Summation wirksamer, einzelner Belastungsreize eines Bades gelingen (WIEDEMANN 1957; KÜHNAU 1952).

Bei der Beeinflussung eines Krankheitsbildes durch die Balneotherapie handelt es sich u. a. um Leiden endokriner Fehlsteuerung und die dadurch bedingte, abnorme Verhaltensweise des Mesenchyms. Diese ist durch eine vermehrte Produktion, eine veränderte Zusammensetzung und einen gesteigerten Abbau der Interzellularsubstanz und des strukturierten mesenchymalen Gewebes gekennzeichnet (HILLER 1954).

Zu diesen Krankheitsbildern gehören die Hyperplastischen Mesenchymerkrankungen (z. B. chronischer Gelenk- und Muskelrheumatismus, Wirbelsäulen- oder Bandscheibenaffektionen, Gicht, Ischias, sowie einige Herz-, Gefäß- und Nierenerkrankungen), ebenso wie alle allergisch-hyperergischen Reaktionen (KÜHNAU 1952).

Hierbei spielt das Hyaluronidase-Antihyaluronidase-System, auf welches die Corticoide gleichermaßen Einfluß nehmen, wie auf die Synthese der Glycoproteide, aus denen das Mesenchym aufgebaut wird, keine unwesentliche Rolle (KÜHNAU 1952; HILLER 1954).

Unter den verschiedenen balneotherapeutischen Maßnahmen, wie *Solbäder* (WIEDEMANN 1959; CANEL, ENGELHARD und

SCHRAMM 1959), *Dampfbäder* (PEKKARINEN und KINNUNEN 1951), *„Gasteiner Stollenkuren"* (HAUS und INAMA 1957/59), ebenso wie unter *Schwefel-, Huminsäurebädern* oder *Moorpackungen* (FELLINGER, EMZINGER, SCHMID und WARUM 1959; HILLER 1952/54; SCHMID 1953; WESKOTT 1959), *Schlammbädern* (CANEL, ENGELHARD und SCHRAMM 1959), *Überwärmungsbädern* (WIEDEMANN 1959; HOLLEMANN 1959) und *Kaltwassertherapie* (SCHILL 1965) wurden zum Teil ganz erhebliche Veränderungen der 17-Ketosteroid- und Cortisolausscheidung im Harn und der Eosinophilen festgestellt, welche auf eine durch einen „Stress" hervorgerufene, gesteigerte Nebennierenrindenaktivität schließen ließen.

In kohlensäurehaltigen Bädern muß man drei verschiedene, auf den Organismus einwirkende Komponenten unterscheiden, die bei einer therapeutischen Anwendung berücksichtigt werden müssen: eine mechanische, eine chemische und eine thermische (FRANKE 1965).

Mittels seiner mechanischen Komponente kommt es im Körper zu einer ganz wesentlichen hämodynamischen Umstellung, die der in einem Süßwasserbad gleichkommt. Nur hat man, im Vergleich zu letzterem, wesentlich günstigere Voraussetzungen, die aus dem gleichzeitigen Einwirken der zweiten, chemischen Komponente resultieren, welche diesem mechanischen Einfluß gleichermaßen ein Wegbereiter ist. Diese zweite Komponente, die Kohlensäure (in Form von CO_2-Gasblasen) übt nämlich einen nicht zu unterschätzenden Hauteffekt aus, unter dem es schon bei thermoindifferent empfundener Temperatur zu einer erheblich gesteigerten Hautdurchblutung kommt, die sich in der Rötung der betroffenen Hautstellen äußert (LILJESTRAND und MAGNUS 1922; KRAMER und SARRE 1935; PARADE 1955). Dies geschieht mittels einer scheinbaren durch die Kohlensäure „simulierten" Wärmeeinwirkung von außen, bei der es über verschiedene, vom wärmeregulatorischen Aspekt aus, gesteuerte Vorgänge zu einer Erweiterung

der Hautkapillaren kommt (LILJESTRAND und MAGNUS 1921 und 1922; GOLLWITZER-MEIER 1937).

Die dabei erreichte Blutverlagerung in die Peripherie beträgt ca. 1,5 l (WITZLEB 1962). Dieser Umstand, und ebenso die Tatsache, daß durch Abgabe von Körperwärme nach außen, eine Kerntemperaturerniedrigung erreicht wird, macht es verständlich, daß eine bemerkenswerte Entlastung des Herzens zustande kommt (GOLLWITZER-MEIER 1937).

GOLLWITZER-MEIER (1935) sprach in diesem Zusammenhang von einer Ökonomisierung der Hämodynamik, während an anderer Stelle von einem Training der peripheren Gefäßregulation gesprochen wird (Lit. bei WITZLEB 1962); HILDEBRANDT und GEHLKEN 1961 umschrieben diesen Befund: das Herz arbeitet im Schongang. Die dritte Komponente — die Thermik — kommt im allgemeinen im CO_2-Bad nicht zur Anwendung, da eine thermoindifferent empfundene Temperatur im praktischen therapeutischen Gebrauch meist eingehalten wird.

Aus diesen Wirkungen auf den Organismus erklärt sich auch ein gewisser Teil der durch das CO_2-Bad therapeutisch beeinflußbaren Leiden. So beschreibt z. B. HEDIGER 1921 Besserung bei Durchblutungsstörungen; diese Beobachtung konnten PARADE 1955 und WITZLEB 1955 ebenfalls bestätigen.

DIRNAGEL 1955, FRANKE 1962, GOLLWITZER-MEIER 1935, HILDEBRANDT 1961, HILLER 1954, KÜHNAU 1952 u. a. berichteten von gewissen Herz- und Kreislauferkrankungen, Gelenk- und Muskelrheumatismus und anderen rheumatisch verursachten Leiden (s. o.), bei denen sie eine therapeutische Wirkung des CO_2-Bades feststellen konnten. Um derartige Besserungen erklären zu können, reichen die bisher ermittelten Erkenntnisse kaum aus, so daß die Frage nach einem „Stress" als möglichen Wirkungsmechanismus nicht außer acht gelassen werden darf.

Es wurden deshalb in dieser Richtung Untersuchungen durchgeführt, wobei man sich die Beobachtung zunutze machte, daß einem

„Stress“ zufolge die Nebennierenrindenaktivität auf Anstoß durch den Hypophysenvorderlappen erhöht wird. Als Ausdruck dieser Nebennierenrindenaktivität wurde der Cortisolspiegel im Plasma bestimmt, wodurch man gewissermaßen eine „Momentaufnahme“ zu dem jeweiligen Blutentnahmetermin erhielt.

METHODIK

A) Untersuchungsgut

Bei unserem Untersuchungsgut handelte es sich ausschließlich um innersekretorisch gesunde Probanden, die auch herz- und kreislaufgesund waren.

Infektionskrankheiten oder sonstige, einen „Stress" bewirkenden Ursachen lagen nicht vor. Das Alter unserer Versuchspersonen (die Voruntersuchungen eingeschlossen) variierte zwischen 21 und 46 Jahren; geschlechtliche Unterteilung: 2 weibliche und 17 männliche Untersuchte.

5 Probanden benötigten wir für die Voruntersuchungen, die sich jeweils über einen Vormittag erstreckten, um eventuelle Spontanschwankungen des Cortisolspiegels im Plasma während der gewählten Untersuchungsdauer zu erfassen.

Mit den 14 anderen Versuchspersonen haben wir die eigentlichen Untersuchungen durchgeführt. Diese erstreckten sich bei den Versuchspersonen Nr. 1, 2, 3, 5, 6, 8, 10, 12 und 14 über drei, bei den Probanden Nr. 4, 7, 9, 11 und 13 über zwei aufeinanderfolgende Vormittage. Bei der Versuchsperson Nr. 4 mußten wir unsere Untersuchung nach dem ersten Wert des zweiten Tages auf Grund der sehr schlechten Venenverhältnisse abbrechen.

B) Durchführung der Untersuchungen

Da der Cortisolspiegel im Blut (bzw. Plasma) gewissen Schwankungen während eines Tagesablaufes unterworfen ist (ZIMMERMANN 1955), mußte man zunächst eine Anzahl von Vorversuchen

durchführen, die Aufschluß darüber geben mußten, ob sich während eines umschriebenen Zeitraumes Veränderungen des Cortisolspiegels einstellten, und, falls sich dies herausstellen sollte, wie groß diese Schwankungen wären.

Um die eigentlichen Untersuchungen durchführen zu können, mußte also, durch diese zeitliche Abhängigkeit bedingt, ein durch diese Vorversuche ausgetesteter, konstanter Zeitraum für die Versuche eingehalten werden.

Der Zeitpunkt für den Beginn eines Versuches wurde auf einen relativ frühen Termin festgelegt, da sich der Versuchsablauf über mehrere Stunden erstreckte, und die Versuchspersonen außerdem die ganze Zeit über nüchtern bleiben mußten, um einen weiteren, sich störend auswirkenden Faktor ausschalten zu können.

Es wurde jeweils um 8.00 Uhr morgens begonnen. Die Probanden legten sich bei den Vorversuchen auf eine Liege, die sich im gleichen Raum befand, in welchem später die Badeversuche durchgeführt wurden. Sie sollten dabei ruhig und entspannt auf der Liege liegen bleiben und möglichst alle unnötigen Bewegungen vermeiden; außerdem war man darauf bedacht die Raumtemperatur so zu halten, daß sie als angenehm empfunden wurde (22—24° C) — die Temperatur weder als zu warm, noch als zu kühl empfunden wurde, da sich auch dieser Umstand störend auf den Cortisolspiegel ausgewirkt hätte.

Nach einer ¾ Stunde wurde zum ersten Mal venöses Blut entnommen, welches später den ersten Wert lieferte.

Die zweite Blutentnahme erfolgte genau eine halbe Stunde später, während ein letztes Mal nach abermals zwei Stunden punktiert wurde. Man benötigte für die weitere Aufarbeitung des Blutes jedesmal 20—25 ml.

Die ganze Zeit über blieb der Proband auf dem Ruhebett liegen.

Bei den sich den Vorversuchen anschließenden Hauptversuchen wurde sowohl die zeitliche Anordnung, als auch der Versuchsablauf aus den Vorversuchen mit einer Abwandlung beibehalten. In Abänderung zu den Vorversuchen haben wir im Mittelteil — also vor

der zweiten Blutabnahme — ein „nasses" CO_2-Vollbad eingebaut, das sich über 10 Minuten erstreckte; diesem folgte bis zur zweiten Blutentnahme eine 20-minutige Ruhephase.

Damit erhielt man folgenden Versuchshergang:

Der Versuchsbeginn erfolgte wieder um 8.00 Uhr morgens; der Proband legte sich ebenfalls auf die Liege; hier erfolgte nach 45 Minuten die erste Blutentnahme. Danach, in Abänderung zum Vorversuch, legte sich der Proband in die Badewanne (genau 10 Minuten), in welcher zuvor das CO_2-Bad angerichtet wurde (s. u.).

Da eine unterschiedliche Verträglichkeit bei den verschiedenen Konstitutionstypen besteht (MIELKE, SCHÄFER, WACHTER zitiert von SCHULZ und AMELUNG 1957), kann man durch Veränderung verschiedener regulativer Größen einen Ausgleich herbeiführen:

durch
1. CO_2-Gehalt des Wassers
2. Dauer des Bades
3. Höhe des Wasserspiegels
4. Wassertemperatur

Da wir jedoch bei den einzelnen Versuchspersonen konstante Bedingungen voraussetzen mußten, um später überhaupt Vergleiche anstellen zu können, haben wir uns bei der Badeanordnung an konstante, mittlere Werte bei allen Versuchspersonen gehalten (MIELKE und SCHÄFER 1957; WACHTER 1955).

1. CO_2-Gehalt des Wassers: 1200—1300 mg/l
2. Dauer des Bades: 10 Minuten
3. Wasserhöhe bis zum Jugulum, einem Vollbad entsprechend
4. Temperatur: 32^0 C

Die Temperatur war an dieser Stelle ein wesentlicher Faktor (WACHTER 1955); man bevorzugte eine Wassertemperatur, die

weder als warm, noch als kalt empfunden wurde, man also Gewähr dafür hatte, daß temperaturbedingte Einflüsse von vornherein ausgeschaltet waren. Dieser Indifferenzpunkt, die sogenannte „Standard Operative Temperature" (GAGGE zitiert von WACHTER 1955) liegt bei CO_2-gesättigtem Wasser bei 32^0 C (GOLLWITZER-MEIER 1937).

Unter dieser Anordnung wurden keinerlei Beschwerden, auch keine mit vegetativer Ursache, wie sie möglich wären, festgestellt (HILDEBRANDT, BERGER, STALLING und STEINKE 1959).

Weiterhin mußte man darauf achten, daß auch in der Badewanne alle unnötigen Bewegungen unterlassen wurden, damit das Wasser einerseits nicht so schnell auskühlte, andererseits die Kohlensäure nicht vorzeitig entwich — die Wassertemperatur und der CO_2-Gehalt des Wasserbades über die Badezeit also konstant blieben.

Nach Beendigung des Bades mußte sich der Proband wieder auf das Ruhebett zurücklegen, eventuell auftretendes Frieren soll dabei möglichst vermieden werden (Decken); nach 20 Minuten wurde dann zum zweiten Mal Blut abpunktiert.

Um 11.15 Uhr, also genau 2 Stunden später, erfolgte schließlich die dritte Entnahme des ersten Versuchstages.

Der gesamte Versuch erstreckte sich für jeden Probanden über zwei bzw. drei Tage; obige Versuchsbedingungen und der Versuchsablauf des ersten Tages wurden an allen Tagen beibehalten.

C) Bestimmung des freien Cortisols im Plasma (nach ALLNER)

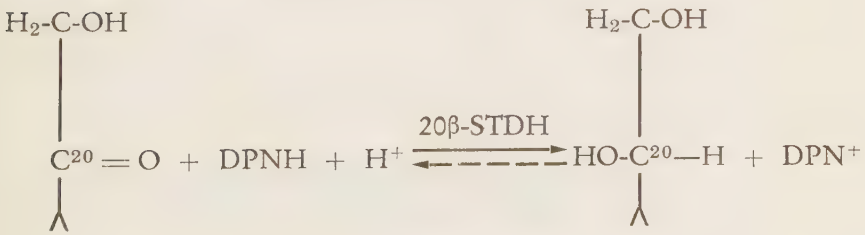
I. Beschreibung der Methode

Cortisol wurde im Plasma nach einer von ALLNER im Laboratorium der Medizinischen Universitäts-Klinik eingeführten Methode in Anlehnung an die von HÜBENER, H. J. und SAHRHOLZ, F. G. 1959 beschriebenen Nachweisreaktion bestimmt. Diese Methode war geeignet zum Nachweis von 20-Ketosteroiden und hatte für die von uns aufgeworfene Fragestellung eine ausreichende Empfindlichkeit und Genauigkeit.

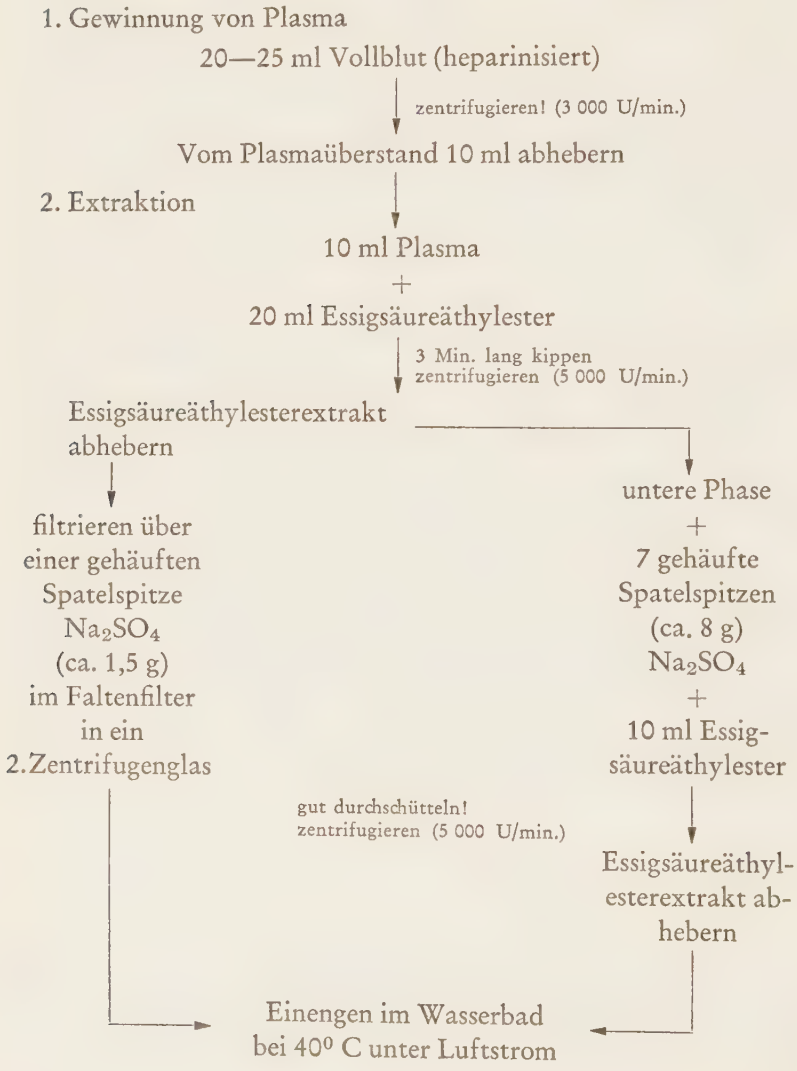
Prinzip

Das Prinzip der Methode bestand in zwei Arbeitsgängen: Ein Extraktions-Reinigungsverfahren und ein sich anschließender Substratnachweis mit Hilfe einer substratspezifischen Enzymreaktion.

Nach der Extraktion des Cortisols aus dem Plasma mit geeigneten Lösungsmitteln wurde mit Hilfe einer 20β-Hydroxysteroiddehydrogenase (20β-STDH: HÜBENER, H. J. und LEHMANN, C. O. 1958) die 20-Keto-Gruppe des Cortisols unter Oxydation von DPNH reduziert (HENNING und ZANDER 1962). Der Verbrauch von DPNH wurde bei 334 nm im Photometer-Eppendorf gemessen. Unter den gegebenen Bedingungen (HÜBENER, H. J. und LEHMANN, C. O. 1958 und MARGRAF, H. W., MARGRAF, C. O. und WEICHSELBAUM 1963) war das Gleichgewicht der Reaktion so weit nach rechts verschoben, daß es zu einem 100-%igen Substratumsatz gekommen war.



II. Schematische Darstellung der chemischen Aufarbeitung
(Methode nach ALLNER)



Es verbleibt ein öliger Rückstand von gelblich-brauner Farbe
Abkühlen des Rückstandes unter kaltem Wasser

3. Reinigung

Zu diesem Rückstand
+
0,5 ml Methylenchlorid
+
4 ml Cyclohexan
+
1 ml Glyzerin

kräftig schütteln (15 Minuten)
zentrifugieren (5 000 U/min.)
absaugen der oberen Fraktion

Glyzerinextrakt

in Mikroreagenzgefäß füllen
zentrifugieren in Eppendorf-Mikrozentrifuge.
Absaugen der oberen Fraktion.

4. Ansatz

0,5 ml Glyzerinextrakt
+
0,5 ml TRA-Puffer (pH 7,3)
+
0,02 ml DPNH

Der ganze Ansatz wird kräftig durchgeschüttelt
und anschließend zentrifugiert

5. Messung

Einfüllen in MT4-Meßküvetten
Ablesen im Eppendorf-Spektralphotometer (mit Multiplier)
mit einem Filter von 334 nm

gut durchmischen

1. Ablesung (E_1) nach ca. 8—10 Minuten
(keine Extinktionsänderung)

Zugabe von 20β-STDH
gut durchmischen

2. Ablesung (E_2) nach ca. 10—15 Minuten
(nach Beendigung des Reaktionsablaufes)

Einzelheiten zur Durchführung siehe bei R. ALLNER (in Vorbereitung) bzw. Methodensammlung für das klin.-chem. Laboratorium der Medizinischen Universitäts-Klinik Tübingen (1966).

ERGEBNISSE

VERSUCHS.	ALTER	1. WERT	2. WERT	3. WERT
H. B.	21	1,75	1,6	1,6
P. S.	23	2,7	2,85	2,7
O. M.	25	1,6	1,75	1,6
K. M.	22	1,6	1,6	1,5
C. B.	25	2,25	2,5	2,5
Mittelwert 2,0				

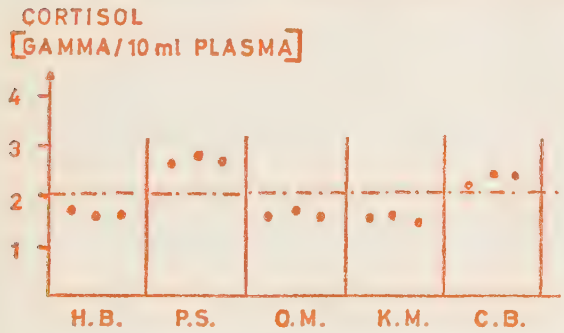


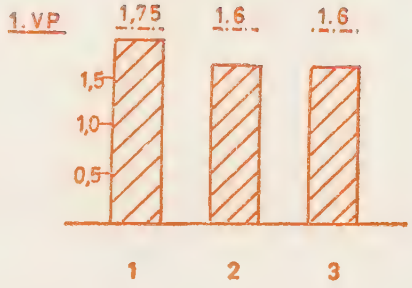
Abbildung 1:

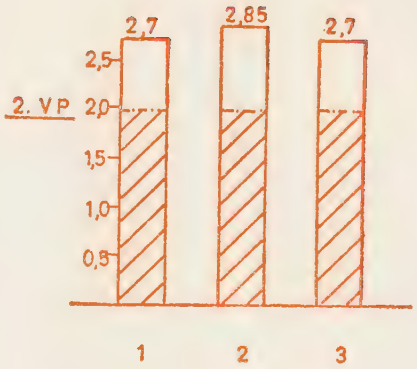
Vorversuche. Cortisol im Plasma zu den drei charakteristischen Zeitpunkten.
1. Wert: nach 45 Minuten Ruhelage
2. Wert: nach 75 Minuten Ruhelage
3. Wert: nach 135 Minuten Ruhelage

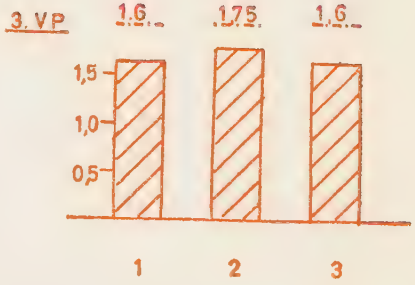
In unseren folgenden Tabellen und graphischen Darstellungen (Abb. 3 ff.) erhält man einen Überblick über den Cortisolspiegel an den drei markanten Zeitpunkten der Blutentnahme der einzelnen Versuchstage.

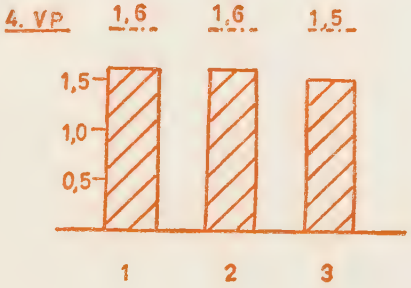
Dabei belief sich der mittlere Cortisolspiegel bei unserem Kollektiv vor der dreitägigen Badekur, die sich aus unseren Ausgangswerten errechnen ließ (1. Werte des 1. Tages), auf 2,45 γ Cortisol/10 ml Plasma. Die Variationsbreite der Einzelwerte lag zum selben Zeitpunkt zwischen 1,6 γ und 3,6 γ/10 ml Plasma.

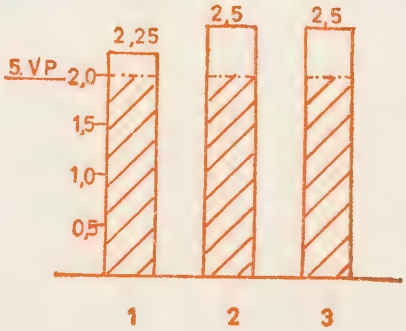
Ähnliche Werte haben SILBER und OSLAPAS (1958) mit einer flourometrischen Bestimmungsmethode erhalten, die mit 23,5 ±











- - - - MITTELWERT (2,0)

Abbildung 2:
Vorversuche:
Cortisol im Plasma der einzelnen Probanden zu den üblichen Blutentnahmeterminen.
1, 2, 3 ist identisch mit dem 1., 2., 3. Wert (s. o.)

Abbildung 3:
Übersicht über den Cortisolspiegel am 1. Versuchstag: 1. vor dem Bad (nach 45 Min. Ruhelage); 2. 20 Min. nach Beendigung des Bades; 3. nach 2 Stunden 20 Min. der Nachphase.

NAME	ALTER	1. WERT *	2. WERT *	STEIGERUNG **	3. WERT *	STEIGERUNG **
1 A. Z.	46	2,5	4,35	66,8	2,85	8,7
2 H. H.	36	2,85	3,7	30,7	3,2	21,8
3 G. B.	22	2,1	3,45	58,8	2,5	17,7
4 U. R.	22	3,1	4,0	28,0	3,35	8,0
5 H. W.	23	2,35	3,1	31,6	2,5	10,5
6 H. K.	25	2,5	3,6	38,0	3,0	14,3
7 A. G.	24	2,2	3,1	38,9	2,1	6,0
8 G. A.	33	2,5	3,6	38,0	2,5	0
9 J. S.	24	2,35	3,0	26,3	2,5	5,3
10 H. Q.	22	2,2	2,5	17,0	2,35	6,0
11 H. G.	23	2,8	3,2	13,0	3,0	4,3
12 J. W.	24	2,0	2,5	25,0	2,1	6,2
13 B. Z.	25	1,6	2,5	61,6	1,9	16,0
14 A. W.	24	3,6	4,5	24,1	3,7	7,0
MITTELWERTE		2,45	3,35	34,13 %	2,7	9,41 %

* In Gamma Cortisol/10 ml Plasma
** Steigerung gegen 1. Wert in %

0,48 µg/100 ml Plasma angegeben wurden. Bei ELY, HUGHES und KELLEY (1958) lagen die flourometrisch bestimmten Werte zwischen 5,0—16,4 µg/100 ml, bei BRAUNSBERG und JAMES (1960) zwischen 6,0—16,6 µg/100 ml Plasma. BOJESEN (1956) berichtete von Werten freien Cortisols im Plasma, die zwischen 6,3—20µg/100 ml Plasma variierten, während HÜBENER und SAHRHOLZ (1959) Werte von durchschnittlich 12 µg/100 ml Plasma fanden.

Der mittlere Ausgangswert von 2,45 γ Cortisol/10 ml Plasma bei unserem Kollektiv war 20 Minuten nach Beendigung des ersten

Abbildung 4:
Der Cortisolspiegel der einzelnen Versuchspersonen als Ausdruck der NNR-Aktivität vor dem CO_2-Bad, 20 Min. nach dem Bad und nach 2 Stunden und 20 Min. der Nachphase. (1. Versuchstag)

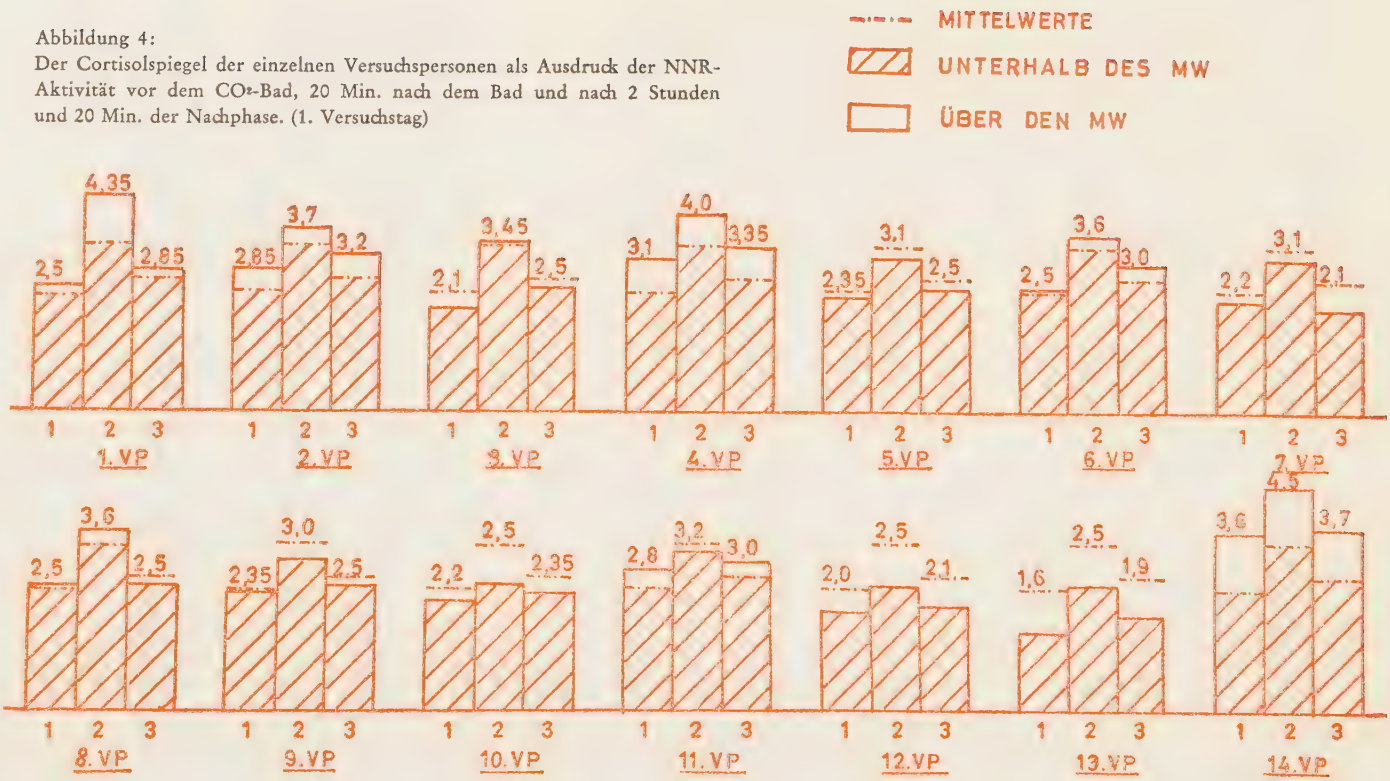


Abbildung 5:
Die Cortisolspiegel in einer Übersicht am 2. Versuchstag:
1. vor dem Bad (nach 45 Minuten Ruhelage)
2. 20 Minuten nach Beendigung des Bades
3. nach 2 Stunden 20 Minuten der Nachphase

NAME	ALTER	1. WERT *	STEIGERUNG **	2. WERT *	STEIGERUNG **	3. WERT *	STEIGERUNG **
1 A. Z.	46	3,2	23,8	4,45	71,4	3,1	19,0
2 H. H.	36	3,1	9,0	4,0	40,0	3,2	21,8
3 G. B.	22	2,5	23,5	3,6	70,6	3,0	41,2
4 U. R.	22	3,35	8,0	—	—	—	—
5 H. W.	23	2,5	5,0	3,6	52,6	3,2	37,0
6 H. K.	25	2,85	9,5	4,45	71,4	3,2	24,0
7 A. G.	24	2,7	22,2	3,6	61,1	2,5	17,0
8 G. A.	33	2,7	5,0	3,85	48,0	3,1	19,0
9 J. S.	24	2,5	5,3	3,2	37,0	2,7	10,5
10 H. Q.	22	2,5	11,0	2,7	22,2	2,35	6,0
11 H. G.	23	2,85	—	3,2	13,0	3,0	4,3
12 J. W.	24	2,1	6,2	2,5	21,2	2,25	12,5
13 B. Z.	25	1,85	16,0	2,85	77,0	2,1	30,8
14 A. W.	24	3,85	7,0	4,45	24,1	3,7	3,8
Mittelwerte		2,75	11,6%	3,55	47,6%	2,9	19,0%

* In Gamma Cortisol/10 ml Plasma.
** Steigerung gegen 1. Wert des 1. Tages in %

CO_2-Bades auf durchschnittlich 3,35 γ Cortisol/10 ml Plasma gestiegen (2. Wert des 1. Tages). Anschließend nach 2 Stunden und 20 Minuten der Nachphase fiel dieser „Badewert" wieder ab und man erhielt einen Mittelwert von 2,7 γ Cortisol/10 ml Plasma für unseren dritten Abnahmetermin des ersten Tages.

Wie oben schon erwähnt, variieren die Einzelwerte vor dem Bad zwischen 1,6 γ und 3,6 γ/10 ml Plasma. 20 Minuten nach dem ersten Bad konnten wir Meßwerte zwischen 2,5 γ und 4,5 γ/10 ml Plasma

Abbildung 6:
Die Cortisolspiegel der einzelnen Versuchspersonen (2. Versuchstag) als Ausdruck der NNR-Tätigkeit zu den bestimmten Zeitpunkten.

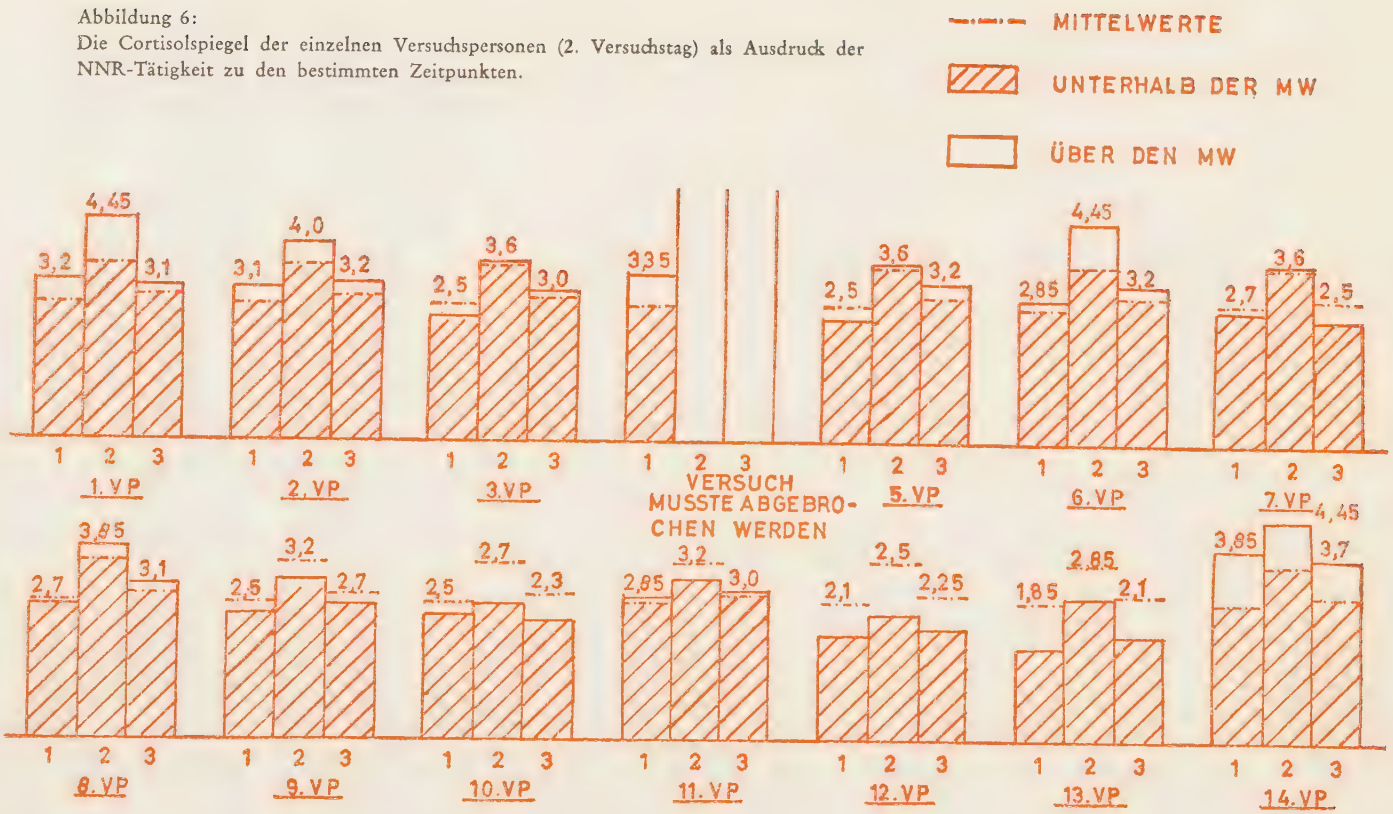


Abbildung 7:
Das Verhalten der Cortisolspiegel am 3. Tag des Gesamtversuches:
1. vor dem CO_2-Bad
2. 20 Minuten nach Beendigung des Bades
3. nach 2 Stunden 20 Minuten der Nachphase

NAME	ALTER	1. WERT *	STEIGE-RUNG **	2. WERT *	STEIGE-RUNG**	3. WERT *	STEIGE-RUNG**
1 A. Z.	46	2,85	8,7	4,1	57,1	3,2	23,8
2 H. H.	36	3,2	21,8	4,2	50,0	3,45	23,0
3 G. B.	22	3,2	53,0	3,7	76,5	3,1	47,0
5 H. W.	23	3,6	52,6	4,35	84,2	3,7	58,0
6 H. K.	25	3,45	33,3	4,45	71,4	3,35	29,0
8 G. A.	33	5,0	19,0	4,2	62,0	3,45	33,3
10 H. Q.	22	2,5	11,0	3,1	38,9	2,5	17,0
12 J. W.	24	2,5	31,2	3,45	75,0	3,0	50,0
14 A. W.	24	4,0	7,0	4,7	31,0	4,1	14,0
Mittelwerte		3,15	26,3%	4,0	60,7%	3,3	32,8%

* In Gamma Cortisol/10 ml Plasma.
** Steigerung gegen 1. Wert des 1. Tages in %

und bei Beendigung unseres Versuches am ersten Tag Werte zwischen 1,9 γ und 3,7 γ/10 ml Plasma feststellen (s. Abb. 3 und 4).

Ein ähnliches Verhalten des Cortisolspiegels an den beiden anderen Versuchstagen konnten wir anhand unserer Werte erkennen. Hierbei lagen die durchschnittlichen Werte zu den entsprechenden Zeitpunkten am jeweils folgenden Tage höher als am Vortage.

So betrugen die Mittelwerte des zweiten Tages vor dem CO_2-Vollbad 2,71 γ/10 ml Plasma, 20 Minuten nach Beendigung des Bades 3,57 γ/10 ml Plasma und zum dritten Abnahmetermin 2,88 γ/10 ml Plasma. Die Schwankungsbreite unserer Werte war auch an diesem Tag ziemlich groß; sie lag zu unserem ersten Zeitpunkt der Blutentnahme zwischen 1,85 γ und 3,85 γ/10 ml Plasma, um 20 Minuten nach dem zweiten CO_2-Sprudelbad auf Werte zwischen 2,5 γ und 4,45 γ/10 ml Plasma zu steigen. Danach erfolgte wieder ein

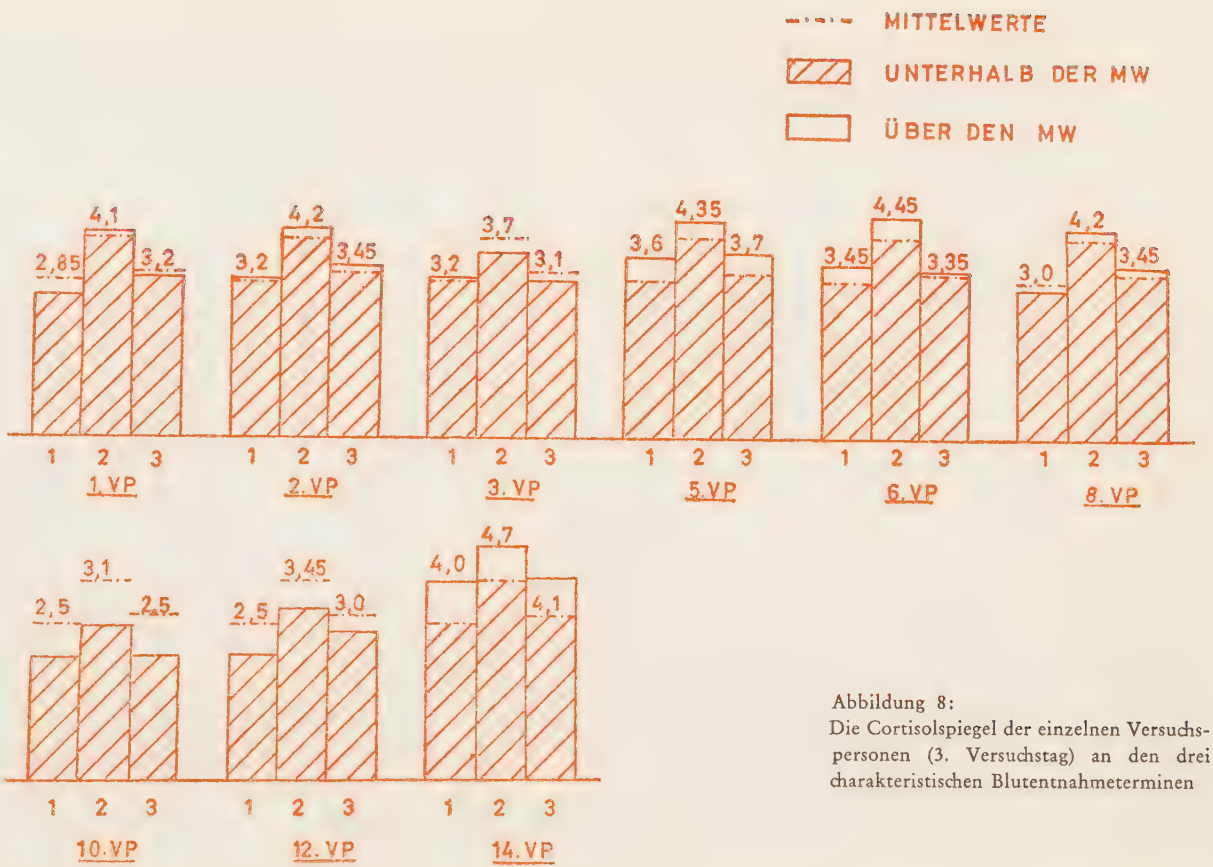


Abbildung 8:
Die Cortisolspiegel der einzelnen Versuchspersonen (3. Versuchstag) an den drei charakteristischen Blutentnahmeterminen

deutlicher Abfall der Cortisolausschüttung, so daß wir zum dritten Termin des zweiten Tages Werte in der Größenordnung zwischen 2,1 γ und 3,7 γ/10 ml Plasma messen konnten (s. Abb. 5 und 6).

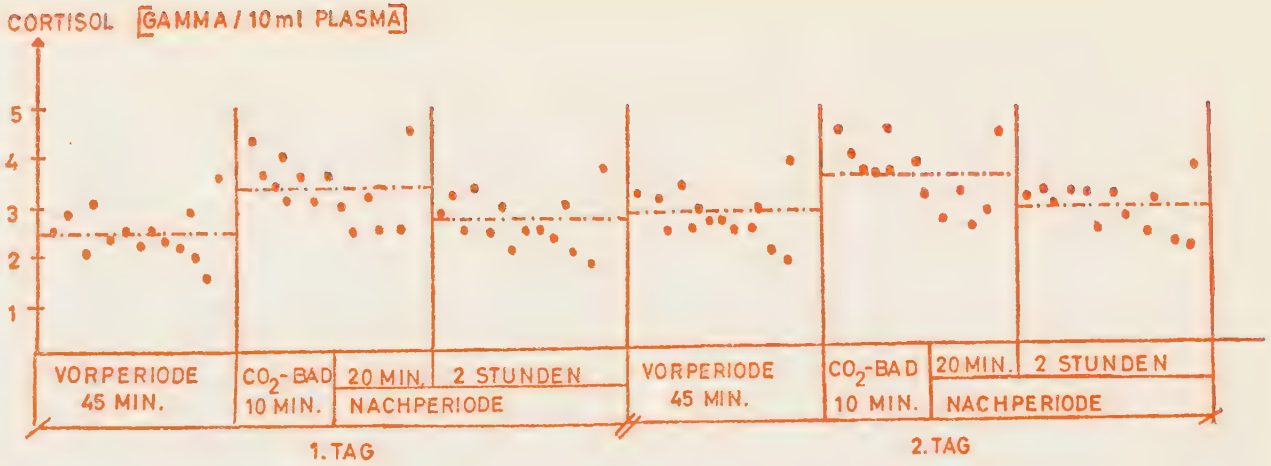
Am dritten Tag erhielten wir folgende Durchschnittswerte: vor dem dritten CO_2-Bad 3,15 γ/10 ml Plasma, 20 Minuten nach Beendigung des Bades 4,0 γ/10 ml Plasma und nach Ablauf von 2 Stunden und 20 Minuten der Nachphase 3,30 γ/10 ml Plasma.

Die Variationsbreite der Einzelwerte lag an diesem Tag zwischen folgenden Extremwerten:

Zum ersten Zeitpunkt der Blutabnahme zwischen 2,5 γ und 4,0 γ/10 ml Plasma. Nach 20 Minuten der Nachphase (2. Blutentnahme zwischen 3,1 γ und 4,7 γ/10 ml Plasma und schließlich bei Beendigung unseres Gesamtversuches am dritten Tag zwischen 2,5 γ und 4,1 γ/10 ml Plasma (s. Abb. 7 und 8).

Bei allen Versuchspersonen konnte man einen Anstieg der Meßwerte nach dem Bad an allen 3 Tagen feststellen. Wir werten diesen Befund als Ausdruck einer gesteigerten Nebennierenrinden-Tätigkeit. In den meisten Fällen wurde außerdem noch eine Erhöhung sowohl der „Badewerte" als auch der „Tagesendwerte" am 2. bzw. 3. Tag gegenüber den Vergleichswerten des Vortages festgestellt. So haben wir schließlich gegenüber dem mittleren Ausgangswert des ersten Tages (2,45 γ/10 ml Plasma) eine durchschnittliche Erhöhung des „Badewertes" von 3,35 γ/10 ml Plasma am ersten Tag, über einen mittleren „Badewert" von 3,55 γ/10 ml Plasma am zweiten Tag, einen „Badewert" von 4,0 γ/10 ml Plasma am dritten Tag erreicht, was einer prozentualen mittleren Steigerung von ca. 61 % entsprach. Die „Tagesendwerte" stiegen dabei von 2,7 γ/10 ml Plasma am ersten Tag über 2,9 γ/10 ml Plasma am zweiten Tag auf 3,3 γ/10 ml Plasma am dritten Tag an, was einer Steigerung im Durchschnitt von ca. 33 % gleichkommt (s. Abb. 9 und 10).

Der Cortisolspiegel stieg bei unseren innersekretorisch gesunden Probanden deutlich als Folge des CO_2-Bades an, wodurch wir un-



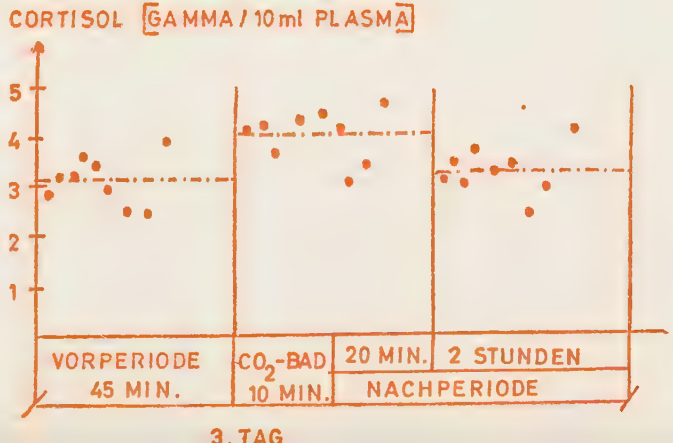
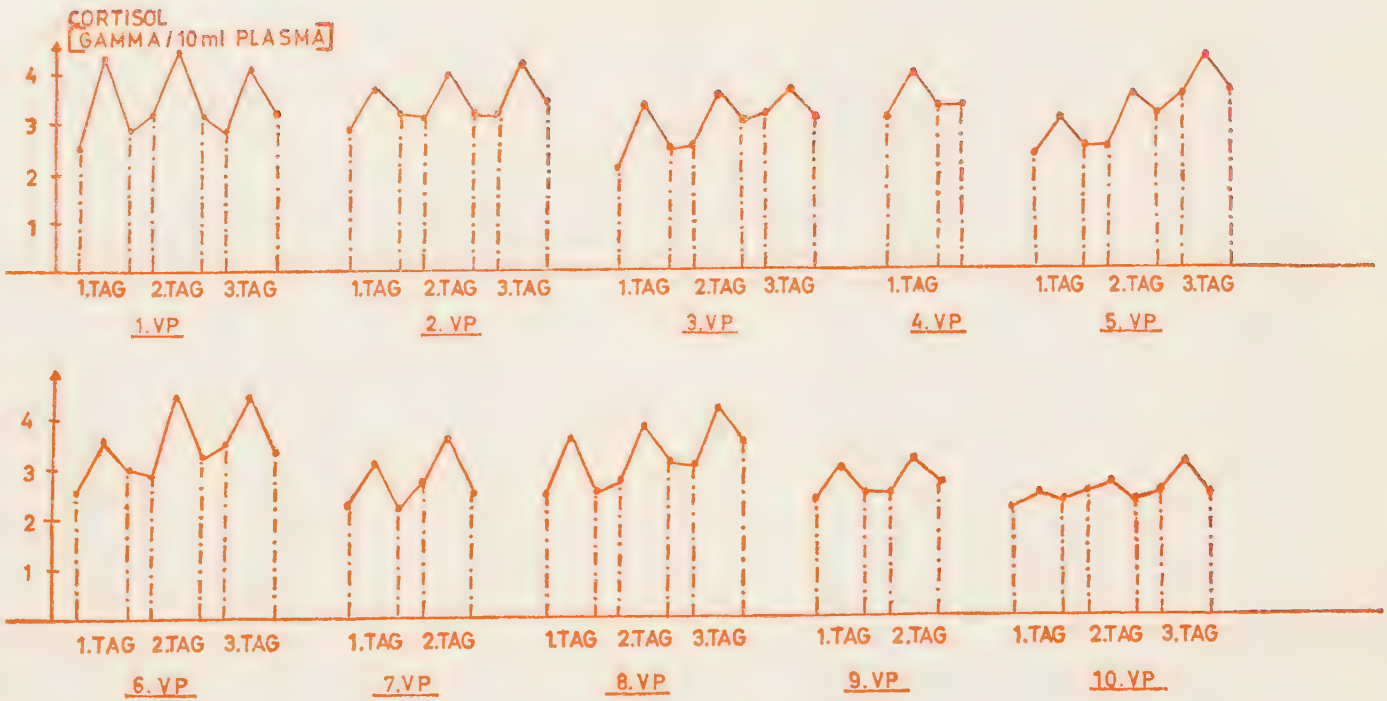


Abbildung 9:
Streuung der Cortisolwerte im Plasma von allen Probanden zu den drei verschiedenen Zeitpunkten der Blutentnahme an allen Versuchstagen.

sere Annahme einer durch die Hypophyse gesteuerten Nebennierenrinden-Aktivierung im Sinne einer Stress-Reaktion bestätigt sahen. Das CO_2-Bad — in unserem Fall der Stressor — bewirkte eine vermehrte ACTH-Ausschüttung, die dann ihrerseits im Rahmen der Hypophysen-Nebennierenrinden-Funktionseinheit u. a. eine vermehrte Cortisolsekretion zur Folge hatte.

Die Steigerung der Nebennierenrindensekretion betrug in unserem Fall bezogen auf den mittleren Ausgangswert nach dem ersten CO_2-Bad etwas mehr als 34 %, nach zwei Bädern ca. 48 % und nach drei Sprudelbädern ca. 61 %, was zwar recht erheblich war, jedoch nicht mit der Wirkung einer intramuskulären Injektion von ACTH (40 I. E.) verglichen werden konnte; hierbei stieg der Cortisolspiegel nach zwei Stunden von 23 µg auf 59 µg/100 ml Plasma (SILBER und OSLAPAS 1958) an, also auf über das 2,5-fache.


CORTISOL
GAMMA / 10 ml PLASMA
4
3
2
1
1.TAG 2.TAG 3.TAG
1. VP
1.TAG 2.TAG 3.TAG
2. VP
1.TAG 2.TAG 3.TAG
3. VP
1.TAG
4. VP
1.TAG 2.TAG 3.TAG
5. VP
4
3
2
1
1.TAG 2.TAG 3.TAG
6. VP
1.TAG 2.TAG
7. VP
1.TAG 2.TAG 3.TAG
8. VP
1.TAG 2.TAG
9. VP
1.TAG 2.TAG 3.TAG
10. VP

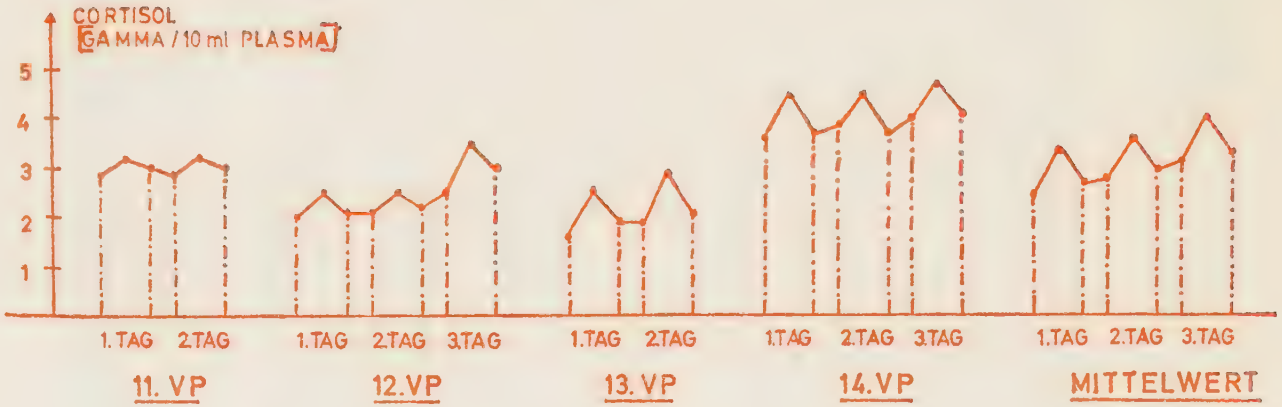


Abbildung 10:
Übersicht über das Verhalten der Cortisolspiegel der einzelnen Probanden während des Versuchsablaufes (zu den drei bestimmten Kontrollpunkten) an allen Versuchstagen.

STATISTISCHE AUSWERTUNG

(gemäß Unterweisung von Dipl.-Math. Gulbinant, Inst. f. Biometrie der Universität Tübingen)

Zunächst mußten die Ergebnisse der Voruntersuchung geprüft werden, um Klarheit darüber zu erhalten, ob sich während der Zeit des eigentlichen Versuchsablaufes (vgl. S. 15 ff.) der Cortisolspiegel signifikant änderte. Mittels einer 2-fachen Varianzanalyse (s. Modell) stellten wir fest, daß zwar der Cortisolspiegel individuell verschieden war, was ja durch die biologische Variationsbreite angenommen werden mußte, die Unterschiede bezüglich der drei markanten Blutentnahmezeiten jedoch nur zufälliger Natur waren ($p = 0{,}20$). Dies bedeutete also, daß der Cortisolspiegel während dieser Zeit nur zufälligen Schwankungen unterworfen war, die bei unseren Versuchsergebnissen nicht berücksichtigt werden mußten.

Nun zu den Hauptversuchen: Um zu prüfen, ob die ermittelten Unterschiede (zwischen Vorperiode, Bad und Nachphase) zufälliger Natur oder signifikant waren, wurde für den dritten Tag eine 2-fache Varianzanalyse durchgeführt und der Test von DUNCAN angefügt. Für die beiden vorhergehenden Tage (1. und 2. Versuchstag) haben wir eine 3-fache Varianzanalyse mit zwei anschließenden t-Tests angewandt.

Wir mußten die beiden ersten Tage und den dritten Tag jeweils gesondert behandeln, da uns für die statistische Auswertung der beiden ersten Tage 13 Versuchspersonen (1 Proband fiel wegen der schlechten Venenverhältnisse aus), für den dritten Tag jedoch nur 9 Versuchspersonen zur Verfügung gestanden haben.

2-fache Varianzanalyse

Für den dritten Tag wurde zur Beurteilung der Frage, ob der Cortisolspiegel von den Versuchspersonen und den drei verschiedenen Zeitpunkten (vor dem Bad, 20 Minuten nach dem Bad, 2 Stunden und 20 Minuten nach dem Bad) abhinge, eine 2-fache Varianzana-

lyse durchgeführt. Dabei wurden die Zeitpunkte als feste, die Probanden als zufällige Faktoren betrachtet; zufällig deshalb, weil die Probanden als willkürlich herausgegriffen angesehen werden müssen.

Hierfür wurde von uns folgendes Modell verwandt:

$$x_{\alpha\beta} = \mu + b_{\alpha}^{P} + \mu_{\beta}^{Z} + e_{\alpha\beta}$$ [1)]

Dabei bedeutet:

$\alpha = 1, \ldots 9$ (= h = Anzahl der Versuchspersonen)
$\beta = 1, 2, 3$ (= k = Anzahl der Zeitpunkte)

$\sum_{\beta} \mu_{\beta} = O$

μ = allgemeiner Mittelwert

b_{α}^{P} = Haupteffekte bezüglich Proband

μ_{β}^{Z} = Haupteffekte bezüglich Zeitpunkt

$e_{\alpha\beta}$ = bezeichnet die biologische Variation

Es wurde angenommen, daß die Größen $c_{\alpha\beta}$ alle verschwinden würden, weiterhin, daß $\{e_{\alpha\beta}\}$ unabhängig N $(o, \sigma e^2)$ und von den $\{b_{\alpha}\}$ waren, und daß die b_{α} unkorreliert sind.

Es wurden die Hypothesen

H_P : Cortisolspiegel ist unabhängig vom Probanden

H_Z : Cortisolspiegel ist unabhängig von den Zeitpunkten der Blutentnahme

geprüft und verworfen (in beiden Fällen ist dabei $p \leq 0{,}01$), d. h.,

---

[1)] Ob Wechselwirkungen zwischen Faktor Proband und Faktor Zeit auftreten, konnte nicht nachgeprüft werden, da jeweils nur eine Messung pro Proband und Zeitpunkt vorlag.

der Cortisolspiegel war vom Faktor Proband abhängig (biologische Variation), ebenso spielte der Blutentnahmetermin eine Rolle.

Duncan-Test

Zur Lokalisierung der Unterschiede der mittleren Cortisolwerte wurde der Test von DUNCAN herangezogen. Dabei stellte es sich heraus, daß zu allen drei Zeitpunkten der Blutentnahme die Cortisolspiegel signifikant voneinander abwichen ($p \leqq 0{,}05$).

Ergebnis:

Laut Duncan-Test waren alle drei Werte zu den verschiedenen Zeitpunkten signifikant voneinander verschieden. Anhand unserer empirisch gewonnenen Werte bzw. deren Mittelwerte ließ sich sagen, daß der Cortisolspiegel nach dem Bad maximal anstieg, der Endwert jedoch noch über dem Ausgangswert (des 3. Tages) gelegen war.

3-fache Varianzanalyse

Die 3-fache Varianzanalyse wurde zur statistischen Auswertung des ersten und zweiten Versuchstages angewandt. Damit sollte die Abhängigkeit des Cortisolspiegels von den einzelnen Probanden, den verschiedenen Blutentnahmeterminen und den beiden ersten Versuchstagen geprüft werden. Wir hatten hierzu ein analoges Modell wie zur 2-fachen Varianzanalyse aufgestellt.

Folgende Hypothesen mußten geprüft werden:

H_T : Der Cortisolspiegel ist von den beiden Versuchstagen unabhängig.

H_P : Der Cortisolspiegel ist nicht von den einzelnen Probanden abhängig.

H_Z : Der mittlere Cortisolspiegel hängt nicht von den Zeitpunkten der Blutentnahme ab.

H_{TP}: Wechselwirkungen zwischen dem Faktor „Tage“ und Faktor „Probanden“ treten nicht auf; d. h., die beiden Faktoren beeinflussen einander nicht.

H_{TZ}: Die Faktoren „Tage“ und „Zeitpunkte“ der Blutentnahme beeinflussen einander nicht.

H_{PZ}: Die Faktoren „Probanden“ und „Zeitpunkte“ haben keinen Einfluß aufeinander.

H_{TPZ}: Die drei Faktoren „Tage“, „Probanden“ und „Zeitpunkte“ beeinflussen einander nicht; es besteht keine dreifache Wechselwirkung.

Von diesen Hypothesen konnte H_{TPZ} nicht überprüft werden; deshalb mußte man voraussetzen, daß sie erfüllt war.

Die Hypothesen H_{TZ} und H_{TP} konnten akzeptiert werden ($p \geqq 0{,}50$ bzw. $0{,}05 \leqq p \leqq 0{,}10$), hingegen mußten wir die H_{PZ}-Hypothese bei einem Signifikanzniveau von $p \leqq 0{,}001$ verwerfen. Dies bedeutete für uns, daß zu den verschiedenen Zeitpunkten einzelne Probanden (mindestens einer) anders reagieren als der Durchschnitt der Probanden.

Die Hypothesen H_T, H_P und H_Z wurden ebenfalls verworfen; dies geschah bei einem Signifikanzniveau von $p \leqq 0{,}001$. Für die Hypothese H_P konnte kein Signifikanzniveau angegeben werden, da deren Überprüfung nur approximativ durchgeführt werden konnte.

Ergebnis:

Diese Aussagen bedeuteten für uns also folgendes:

1. Der Cortisolspiegel hing vom Faktor „Tage“ ab, war also an den beiden ersten Tagen voneinander verschieden. Er stieg, wie wir nach unseren empirischen Werten vermuten mußten, am zweiten Tag an.

2. Der Cortisolspiegel war weiterhin vom Faktor „Probanden" abhängig, was wiederum die biologische Variabilität kennzeichnete (vgl. 2-fache Varianzanalyse).

3. Der Cortisolspiegel war in seiner Höhe von den Zeitpunkten der Blutentnahme abhängig.

t-Test

Durch die Varianzanalyse wurde nur festgestellt, daß die mittleren Cortisolspiegel zu allen drei Zeitpunkten nicht gleich waren. Um jedoch die Unterschiede lokalisieren zu können, wurde mittels eines Mittelwertvergleiches für gepaarte Stichproben (sog. t-Test) geprüft, ob der mittlere Cortisolspiegel der ersten Zeitpunkte (für den ersten als auch für den zweiten Tag) signifikant vom mittleren Cortisolspiegel der dritten Zeitpunkte an den betreffenden Tagen verschieden war. Ein signifikanter Unterschied zwischen erstem und zweitem, sowie zwischen zweitem und drittem Abnahmetermin war evident.

Beide t-Tests lieferten uns signifikante Ergebnisse.
(Signifikanzniveau für den 1. Tag: $p \leqq 0{,}005$)
(Signifikanzniveau für den 2. Tag: $0{,}025 \leqq p \leqq 0{,}05$)
(s. Abb. 11)

Dies bedeutete für uns, daß der Cortisolspiegel nicht nur an mindestens zwei, sondern an allen drei Zeitpunkten der Blutentnahme eines Versuchstages verschieden war; nach unseren empirischen Werten war der erste Wert der kleinste, der zweite Wert (20 Minuten nach dem Bad) der größte.

Die Beziehung zwischen erstem und zweitem Tag gegenüber dem dritten Tag wurde nicht untersucht, da die Vermutung nahe lag, daß der Anstieg der mittleren Cortisolwerte nicht nur an den ersten bei-

den Tagen signifikant war, was uns die 3-fache Varianzanalyse lieferte (s. o.), sondern daß dieser Anstieg auch den dritten Tag mit einbezog, wie man aus den empirisch gewonnenen Werten ersehen konnte.

Abbildung 11:
Übersicht über die mittleren Cortisolspiegel des statistisch verwertbaren Untersuchungsgutes (vgl. S. 15) an den beiden ersten Versuchstagen
1) vor dem CO_2-Bad
2) 20 Minuten nach Beendigung des Bades
3) nach 2 Stunden 20 Minuten der Nachphase
(Unterschiede gegenüber den in Abbildung 3 und 5 und den entsprechenden Textstellen angegebenen Werten rühren aus der statistischen Verwertbarkeit von nur 13 an Stelle der dort 14 aufgeführten Versuchspersonen her)

	vor dem CO_2-Bad	20 Min. nach Beendigung des Bades	nach 2 Std. 20 Min. der Nachphase
Mittelwerte am 1. Tag	2,43	3,32	2,63
Mittelwerte am 2. Tag	2,71	3,55	2,90
Gesamtmittelwerte des 1. und 2. Tages	2,57	3,44	2,77

ZUSAMMENFASSUNG

Da bisher über den Einfluß von Kohlensäurebädern auf die Nebennierenrindenaktivität entsprechende Angaben fehlten, wurde mir die Aufgabe gestellt, Untersuchungen in dieser Richtung anzustellen.

Dabei wurde freies Cortisol im Plasma enzymatisch bestimmt, womit man gewissermaßen eine „Momentaufnahme" der Nebennierenrindentätigkeit zum Zeitpunkt der Blutentnahme erhielt.

Der mittlere Cortisolspiegel bei unserem innersekretorisch gesunden Untersuchungsgut betrug bei Beginn der Untersuchungen 2,45 γ/10 ml Plasma und war 20 Minuten nach dem Bad auf 3,35 γ/10 ml Plasma angestiegen; nach 2 Stunden 20 Minuten der Nachphase konnten wir einen mittleren Cortisolspiegel von 2,7 γ/10 ml Plasma feststellen.

Am zweiten Versuchstag erhielt man folgende mittleren Werte für den Cortisolspiegel: vor dem Bad 2,75 γ/ml Plasma, als zweiten Wert 3,55 γ/10 ml Plasma und als Tagesendwert 2,9 γ/10 ml Plasma.

Analog dazu die Werte des dritten Versuchstages: vor dem Bad 3,15 γ/10 ml Plasma, danach 4,0 γ/10 ml Plasma und als Endwert unseres Gesamtversuches 3,3 γ/10 ml Plasma.

Die Cortisolausschüttung war in bezug auf die Tage, als auch was die Zeitpunkte der Blutentnahme anbetraf, jeweils voneinander signifikant verschieden.

Dabei stieg der Tagesausgangswert auf ein Maximum nach dem Bad an, fiel dann wieder ab und verblieb bis zum nächsten Tag auf einer gegenüber dem Vortag erhöhten Basis.

Unter CO_2-Bädern kommt es zu Organreaktionen im Sinne eines SELYE'SCHEN Stress-Syndroms. Wir erhielten bei unserer 3-tägigen Badekur nach dem dritten Bad eine Steigerung des Plasmacortisolspiegels um durchschnittlich ca. 61 % gegenüber unserem Versuchsausgangswert.

LITERATURVERZEICHNIS

Allen, F. M.: Physical and toxic factors in shock.
Arch. Surg. 38, 155 (1939)

Arnhold, J.: Über Unterschiede im Normal-(Ruhe-)Blutbild zwischen warmblütigen und kaltblütigen Pferden und das Verhalten beider unmittelbar nach Arbeitsleistung.
Diss. Leipzig (1937)

Bacchus, H.: Cytological distribution of cholesterol and ascorbic acid in the adrenal cortex of the rat exposed to cold.
Anat. Rec. 110, 495 (1951)

Bell, J. R. Clarce, A. M. and Cuthbertson: Experimental traumatic shock.
J. Physiol. 92, 361 (1938)

Best, C. H. and Solandt, D.: Studies in experimental shock.
Canad. M. A. J. 43, 206 (1940)

Beznak, A. und Perjes, J.: Über den Zusammenhang der Nebennierenhypertrophie mit körperlicher Arbeit und mit dem Gehalt der Nahrung an Vitamin B.
Pflüger's Arch. 236, 181 (1935)

Beznak, A. und Sarkady, L.: Über die Wirkung der Arbeit auf das Wachstum und Gewicht der Rattenorgane.
Pflüger's Arch. 234, 157 (1933)

Bojesen, E.: Bestimmung von Cortisol im Plasma.
J. clin. lab. invest. 8, 55 (1956)

Braunsberg, H. und James, V. H. T.: Bestimmung von freiem Cortisol und Corticosteron im Plasma.
J. Endocrin. 21, 333 (1960)

Budelmann und Krüger: Über den Einfluß der indifferenten Bäder auf intrapleuralen Druck und Venendruck.
Z. klin. Med. 129, 178 (1935)

Canel, Y., Engelhard, A. und Schramm, B.: Experimentelle Untersuchung über den Wirkungsmechanismus von Luxeuil-les-bains auf den Genitalapparat der Ratte.
Arch. phys. Therap. 11, 142 (1959)

Cannon, W. S.: Traumatic shock.
New York, D. Appleton and co, 1923

Cope, C. L. and Black, E.: The production rate of cortisol in man.
British med. journal 1, 1020 (1958)

Davis, H. A. and Jermstad, R. J.: Regional redistribution of blood in experimental secondary shock.
Arch. surg. 38, 546 (1939)

Deanesly, R.: The histology of adrenal enlargement under experimental conditions.
Am. journal anat. 47, 475 (1931)

Dirnagel, K.: Experimentelle Ergebnisse über Kreislaufwirkungen von CO_2-Bädern.
Arch. phys. Therap. 7, 122 (1955)

Dohan, F. C.: Effect of low atmospheric pressure on the adrenals, thyms and testes of rat.
Proc. Soc. exper. bil. and med. 49, 404 (1942)

Einhauser, M.: Giftwirkung der Schlafmittel und Nebennierenrinde.
Klin. Wochenschr. 1, 423 (1939)

Ellinger, F.: Die biologischen Grundlagen der Strahlenbehandlung. Sonderband zur Strahlentherapie, 20,
Berlin, Urban und Schwarzenberg Nr. 24 (1935)

Ely, R. S., Hughes, E. R. and Kelley, V. C.: Flourometrische Bestimmungen von freiem Cortisol und Corticosteron im Plasma.
J. clin. endocrin. 18, 190 (1958)

Erb, J. H., Morgan, E. M. and Farmer, A. W.: The pathology of burns. The pathologic pictures as revealed at autopsy in a series of 61 fatal cases treated at the hospital for sick children, Toronto, Canada.
Ann. surg. 117, 234 (1943)

Fellinger, K., Enzinger, J., Schmid, J. und Warum, F.: Über den Einfluß von Schwefelbädern auf die Steroidausscheidung im Harn.
Klin. Med. (Wien) 7, 289 (1959)

Ficarra, B. J. and Naclerio, E. A.: The physiochemical disturbance in a severe burn.
Surgery 16, 82 (1920)

Fine, J., Fischmann, J. and Frank, I. A.: The effect of adrenal cortical hormones in hemorrhage and shock.
Surgery 12, 1 (1942)

Franke, M.: Die Balneologie in der Behandlung der Herz- und Kreislauferkrankungen.
Fortbildungstagung für Ärzte des öffentlichen Gesundheitsdienstes in Hessen.
Bad Orb 28./29. 10. 1965

Franke, M. und Dürr, F.: Verhalten des Säure-Basen-Haushaltes im Blut unter dem Einfluß von Kohlesäurebädern.
Z. angew. Bäder- und Klimaheilkunde 13, 51 (1966)

Franke, M. und Lecher, W.: Zur Behandlung der essentiellen Hypertonie.
Ther. der Gegenwart H. 5, 238 (1962)

Freund, H., Grafe, E.: Untersuchungen über den nervösen Mechanismus der Wärmeregulation.
Arch. exp. Path. u. Pharm. 70, 135 (1912)

Gollwitzer-Meier, Kl.: Beiträge zur Wärmeregulation auf Grund von Bäderwirkungen.
Klin. Wochenschr. 16, 1418 (1937)

Gollwitzer-Meier, Kl.: Kreislauf und Atmung im Bad.
Der Balneologe 2, 289 (1935)

Gollwitzer-Meier, Kl.: Über die Beziehungen zwischen Gaswechsel und Herzminutenvolumen in Bädern verschiedenen Wärmegrades.
Der Balneologe 4, 58 (1937)

Hauessler, H.: Über die Kohlensäurediffusion durch die menschliche Haut.
Pflüger's Arch. 237, 448 (1936)

Hartenbach, W.: Untersuchungen über das Reaktionsvermögen des Organismus vor und nach einer operativen Belastung. Teil I: Der operative Stress und seine Auswirkung.
Münch. med. Wochenschr. 13, 433 (1956)

Haus, E. und Inama, K.: Die Wirkungen der Gasteiner Kurmittel auf das endokrine System.
Arch. phys. Therap. 11, 142 (1959)
Wien. med. Wochenschr. 660 (1957)

Hediger, St.: Die Kohlensäurebäder und ihre Wirkung auf die Zirkulation.
Schweiz. med. Wochenschr. 1921, 151

Hediger, St.: Experimentelle Untersuchungen über die Resorption der Kohlensäure durch die Haut.
Klin. Wochenschr. 1928 II, 1553

Henning, H. D. und Zander, J.: Verwendung von HÜBENER's 20-Hydroxysteroid-Dehydrogenase bei mikrochemischer Identifizierung und Trennung von Steroiden.
Hoppe-Seyler's Z. 330, 31 (1962)

Hildebrandt, G.: Über die Variabilität des Pulsrhythmus (Pulsperiodenstreuung) und ihre Beeinflussung durch die CO_2-Badekur.
Arch. phys. Ther. 11, 132 (1959)

Hildebrandt, G. und Gehlken, K.: Aktuelle Probleme der Balneologie.
Ärztliche Forschung, 15, I, 76 (1961)
Ärztliche Praxis 13, 453 (1961)

Hildebrandt, G.: Balneologie und vegetative Regulation.
Die Therapiewoche 9, 465 (1958/59)

Hilgenfeldt, O.: Die Behandlung und die pathogenetischen Grundlagen der Verbrennungen.
Erg. der Chir. u. Orthop. 29, 102 (1936)

Hiller, E.: Experimentelle Untersuchungen zum Problem der Wirkungsweise gewisser Huminsäuren aus dem Moor bei der Behandlung rheumatischer Erkrankungen.
Med. Monatsschr. 6, 302 (1952)

Hiller, E.: Untersuchungsmethoden zur Wirkungsweise balneologischer Maßnahmen.
Münch. med. Wochenschr. 96, 629 (1954)

Hollmann, W.: Die therapeutische Wirkung der Überwärmungsbäder.
Arch. phys. Therap. 11, 147 (1959)
Heilkunst 71, 127

Hübener, H. J. und Lehmann, C. O.: Die enzymatische 20-Keto-Reduktion durch Extrakte aus Streptomyces hydrogenans.
Hoppe-Seyler's Z. 313, 124 (1958)

Hübener, H. J. und Sahrholz, F. G.: Über eine enzymatische Analyse von Nebennierenrinden-Hormonen im Blutplasma.
Naturwissenschaften 46, 112 (1959)

Hungerland, H.: Änderungen der Harnzusammensetzung nach Abklemmung der art. carot. com.
Arch. exp. Path. und Pharm. 176, 306 (1934)

Hungerland, H.: Der Einfluß der Abklemmung großer Arterien auf die Harnzusammensetzung.
Pflüger's Arch. 235, 644 (1935)

Khalil, H. H.: Effect of hypothermia on the hypothalamic-pituitary response to stress.
Brit. med. journal 2, 733 (1954)

Killian, H.: Die Bedeutung der Nebenniere bei Kälteschaden.
Zentralblatt für Chirurgie 70 I, 50 (1943)

Kramer, K. und Sarre, H.: Untersuchungen über CO_2-Diffusion durch die Haut.
Der Balneologe 2, 4 (1935)
Arch. exp. Path. 180, 545 (1935)

Kühnau, J.: Probleme der modernen Balneologie.
„Medizinische" 559 (1952)

Langley, L. L. and Clarke, R. W.: The reaction of the adrenal cortex to low atmospheric pressure.
Yale J. biol. and med. 14, 529 (1942)

Liebegott, G.: Studien zur Orthologie and Pathologie der Nebenniere.
Beitr. path. Anat. 109, 93 (1944)

Liesegang und Lampert: Die Bedeutung der Kolloidchemie für die Balneologie.
Der Balneologe 2, 16 (1935)

Liljestrand, G. und Magnus, R.: Die Wirkung der Kohlensäurebäder beim Gesunden . . .
Pflüger's Arch. 193, 527 (1922)

Liljestrand, G. und Magnus, R.: Versuche über die Wirkung der Kohlensäurebäder in St. Moritz.
Schweiz. med. Wochenschr. 2, 1109 (1921)

Loraine, J. H.: Clinical application of hormon assay.
S. 244

Mader, W. J. and Buck, R. R.: Colorimetric determination of cortisol and related ketol steroids.
Analytical chemistry 24, 666 (1952)

Margraf, H. W., Margraf, C. O. and Weichselbaum, T. E.: A method for the enzymic determination of corticosteroids in extracts from whole blood, plasma and urine.
Steroids, an international journal 2/2, 143 (1963)

Matthews, H. B.: Obstetric shock: its causes, recognition and management.
J. A. M. A. 113, 1183 (1939)

Mielke und Schäfer, W.: Zur Dosierung von CO_2-Bädern.
Arch. phys. Ther. 9, 311 (1957)

Moon, V. H., Kornblum, K. and Morgan, D. R.: The nature and pathology of radiation sickness.
J. A. M. A. 116, 489 (1941)

Nitschke, A.: Über einen neuen Kalium senkenden Extrakt aus der Nebenniere.
Klin. Wochenschr. 1938 I, 390

Olitzki, L., Avinery, S. and Koch, P. K.: The hypothermic and adrenohemorrhagic effects of bacterial vaccines.
J. immunol. 45, 237 (1942)

Parade, G. W.: CO_2-Gasbäder und periphere Durchblutungsstörungen.
Arch. phys. Ther. 7, 118 (1955)

Pekkarinen, A. und Kinnunen, O.: On the physiological effects of the Finnish steambath. The excretion of 17-ketosteroids and the reactions of eosinophils.
Acta endocrinol. 7, 282 (1951)

Petersen, W. F.: The effect of cold, heat and weather on the human being.
Arch. phys. Ther. 21, 522 (1940)

Photakis, B.: Nebennierenveränderungen bei Infektionskrankheiten.
Berl. klin. Wochenschr. 58, 1325 (1921)

Pincus, G. and Hoagland, H.: Steroid excretion and the stress of flying.
J. aviation med. 14, 173 (1943)

Pinner, M. and Margulis, A. E.: The lethal effect of solar radiation guinea pigs.
Ann. int. med. 10, 214 (1936)

Porter, C. C. and Silber, R. H.: A quantitative color reaction for cortisone and related 17, 21 — Dihydroxy-20-ketosteroids.
J. biolg. chemistry 185, 201 (1956)

Raab, W.: Medullary hormone content of the adrenals of white rats subjected to low atmospheric pressure.
J. aviation med. 14, 284 (1943)

Riml, O.: Cortinmangelzustände.
Klin. Wochenschr. 18, 265 (1939)

Robinson, F. B. and Yoffey, J. M.: Histochemical changes by cold and adrenaline in the suprarenal cortex of the adult male rat.
J. anat. (London) 84, 32 (1950)

Russel, V.: Obstetric shock.
The British med. journal 1, 232 (1949)

Rynearson, E. A., Snell, A. M. and Hausner, E.: Behandlung der Addison'schen Krankheit und ihre Erfolge.
Zeitschr. klin. Med. 134, 11 (1938)

Sayers, G. and Sayers, M. A.: Regulations of pituitary adrenocorticotrophic activity during the response of the rat to acute stress.
Endocrinology 40, 265 (1947)

Schmid, J.: Zum Wirkungsmechanismus der Huminsäurebäder.
Med. Klin. 48 I, 849 (1953)

Selye, H.: Annual report on stress (1951)

Selye, H. and Horava, A.: Annual report on stress (1952)

Selye, H.: A syndrome produced by diverse nocuous agents.
Nature 138, 32 (1936)

Selye, H.: Der heutige Stand der Stress-Konzeption.
Münch. med. Wochenschr. 95, 426 (1953)

Selye, H.: Studies on adaptation.
Endocrinology 21, 169 (1937)

Selye, H.: The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation.
The J. clinical endocrinology 6, 117 (1946)

Selye, H.: The significance of the adrenals for adaptation.
Science 85, 247 (1937)

Selye, H.: What is stress?
Metabolism, clin. and experim. 5, 525 (1956)

Schill, W. B.: Die Cortisolsekretion der Nebennierenrinde während Hydrotherapie.
Inaugural-Dissertation (1965)

Schneppenheim, P. und Huhn, A.: Die Nebennierenrinde im O_2-Mangel.
Beitr. path. Anat. 115, 119 (1955)

Schulz, W. und Amelung, W.: Vergleichende Untersuchungen der wirksamen Faktoren des CO_2-Gasbades.
Arch. phys. Therap. 9, 317 (1957)

Shaw, L. A. and Messer, A. C.: Cutaneous respiration in man.
Amer. J. physiol. 98, 93 (1931)

Sheeman, H. C.: The pathology of obstetric shock.
J. obst. and gynec., Brit. Emp. 46, 218 (1939)

Silber, R. H. and Oslapas, R.: Flourometrische Bestimmung von freiem Cortisol im Plasma.
Clin. Chem. 4, 278 (1958)

Snaith, L.: Obstetric shock.
Brit. med. journ. 1, 276 (1940)

Steinhaus, H. H.: Chronic effects of exercise.
Physiol. rev. 13, 103 (1953)

Solomons, D.: Obstetric shock.
Brit. med. journ. 1, 232 (1940)

Stark, G., Friedberg, V. und Allmacher, E.: Die Ausscheidung von Aldosteron, Cortison und Cortisol nach gynäkologischen Operationen.
Klin. Wochenschr. 38, 321 (1960)

Thaddea, S.: Erkrankungen der Nebennieren.
Erg. inn. Med. 54, 753 (1938)

Thaddea, S. und Auersbach, K.: Auslösende Ursachen der akuten Nebenniereninsuffizienz.
Zeitschr. klin. Med. 135, 621 (1939)

Talbott, J. A., Consolazio, W. V., Pecora, L. J.: Hypothermia.
Arch. of internal med. 68, 1120 (1941)

Thorn, G. W., Forsham, P. H., Prunty, F. T. G., Hills, A. G.: A test for adrenal cortical insufficiency.
The journ. of the Amer. med. association 137, 1005 (1948)

Tonutti, E.: Das System der Hypophyse-Nebennierenrinde beim infektiös-toxischen Geschehen.
Neue med. Welt 1, 19 (1950)

Vonkennel, J.: Was ist Cortison?
Neue med. Welt 1, 246 (1950)

Wachter, R.: Eine „Standardtechnik" der balneologisch-experimentellen Kreislaufforschung im CO_2-Bad.
Arch. phys. Therap. 7, 1 (1959)

Wachter, R.: Zur Dosierung des CO_2-Bades.
Arch. phys. Therap. 7, 156 (1955)

Weskott, H.: Die Bedeutung des Schwellenwertes für die Moorbädertherapie.
Arch. phys. Therap. 11, 155 (1959)

Wiedemann, E.: Der Eosinophilentest als Indikator für die Bäderwirkung.
Arch. phys. Therap. 11, 40 (1959)

Wiedemann, E.: Zur Frage des Nachweises der NNR-Aktivität unter hydrotherapeutischen Maßnahmen.
Arch. phys. Therap. 9, 344 (1957)

Winternitz, H.: Über die Wirkung verschiedener Bäder . . .
Deutsch. Arch. klin. Med. 72, 258 (1901)

Witzleb, C.: Handbuch der Bäder- und Klimaheilkunde.
Schattauer Verlag, Stuttgart (1962)

Witzleb, C.: Über die Balneotherapie der peripheren Durchblutungsstörungen.
Arch. phys. Therap. 7, 101 (1955)

Wollmann, E.: Aufnahme und Abgabe des Kohlendioxyds durch Wasser.
Der Balneologe 9, 145 (1942)

Zich, K., Zicha, M. und Zicha, O.: Über die Einwirkung thermischer Bäder auf den Organismus.
Arch. phys. Therap. 11, 167 (1959)

Zimmermann, W.: Die Bedeutung von Steroidhormonbestimmungen für Balneologie und Klimatologie.
Arch. phys. Therap. 7, 405 (1955)

Herrn Professor Dr. H. E. BOCK danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes in seiner Klinik. Meinen besten Dank sage ich Herrn Priv.-Doz. Dr. M. FRANKE für die Überlassung des Themas und für die Förderung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. ALLNER für die Überlassung der Methodik sowie für die Einarbeitung und ständige Beratung, Herrn Professor Dr. M. EGGSTEIN für die Durchsicht des Manuskriptes der vorliegenden Arbeit.

Frau Professor GEPPERT und Herrn Dipl.-Mathematiker GULBINAT bin ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung meines Materials zu Dank verpflichtet.

LEBENSLAUF

Als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Helmut Fink und seiner Ehefrau Hermi geb. Wolf wurde ich, Jürgen Fink, am 23. Oktober 1941 in Berlin-Wilmersdorf geboren.

Ab 1948 besuchte ich die Volksschule in Weinsberg, wechselte nach dem 4. Schuljahr für zwei Jahre auf das Progymnasium Weinsberg über und blieb dann bis zur mittleren Reife an der Internatsschule in Kirchberg/Jagst. Am Robert-Mayer-Gymnasium in Heilbronn legte ich mein Abitur im Frühjahr 1961 ab.

Im Sommersemester 1961 begann ich mit meinem Medizinstudium an der Universität Tübingen, legte hier im Frühjahr 1962 mein Vorphysikum, im Juli 1965 mein Physikum ab. Mein klinisches Studium begann ich in Wien, wechselte für das Sommersemester 1966 an die Universität Hamburg und kehrte danach an die Universität Tübingen zurück. Im Februar 1968 will ich mein Studium mit dem Medizinischen Staatsexamen abschließen.

Jürgen Fink

Tübingen, den 3. Januar 1968